



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) **SU** (11) **1182051 A**

(51) **C 08 G 69/10 // C 07 C 99/12**

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(21) 3734282/23-05

(22) 28.04.84

(46) 30.09.85. Бюл. № 36

(72) Ш.Х. Халиков, М.И. Бердыева,
Р.В. Валиев, М.М. Собиров и С.Д. Вар-
фоломеев

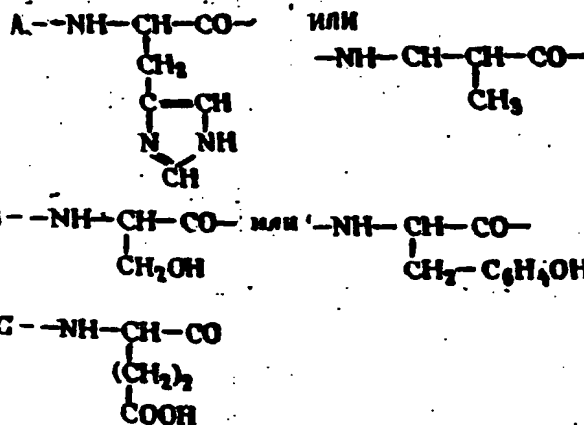
(71) Таджикский государственный
университет им. В.И. Ленина и МГУ
им. М.В. Ломоносова

(53) 678:675 (088.8)

(56) J.M. Van der Bijk et al. Acti-
vity and enantioselectivity in the
hydrolysis of substituted phenyl
esters by optically active imidazole-
containing poly (iminomethylenes). -
Journal of the Royal Netherland
Chemical Society, 1981, 100/6.

(54) ПОЛИТРИПЕПТИДЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ
ЭНАНТОВОЙ СЕЛЕКТИВНОСТЬЮ В РЕАКЦИЯХ
ГИДРОЛИЗА *p*-НИТРОФЕНИЛОВЫХ ЭФИРОВ
КАРБОБЕНЗОКСИ-*D*- и *L*-АЛАНИНА.

(57) Политрипептиды общей формулы
 $H-(A-B-C)_n-OH$,



с мол.м. 6500-10000, обладающие
энантовой селективностью, в реакциях
гидролиза *p*-нитрофениловых эфиров
карбобензоокси-*D* и *L*-аланина.

BEST AVAILABLE COPY

SU (11) **1182051 A**

Изобретение относится к химии полимеров, а именно к политрипептидам, обладающим энантовой селективностью в реакциях гидролиза п-нитрофениловых эфиров карбобензоксидов и L-аланина и используемых в качестве катализаторов для разделения рацемических аминокислот на оптические антиподы.

Целью изобретения является повышение энантовой селективности полипептидов.

Изобретение иллюстрируется примерами, в которых использованы следующие сокращения:

t-Boc - третбутилоксикарбонил;
o-NPS - ортонитрофенилсульфенил;
OTcr - 2,4,5-трихлорфениловый эфир;

BzI - бензил;
DMF - диметилформамид;
DCC - дициклогексилкарбодимид;
Et₃N - триэтиламин;
p-NFA - паранитрофенилацетат;
EtOAc - этилацетат
Z - карбобензоксид;
Ala-L - аланин;
Ser-L - серин;
His-L - гистидин;
Tyr-L - тирозин;
Gln-L - глутаминовая кислота;
ONP - паранитрофениловый эфир;

C - концентрация;
S - концентрация субстрата;
E - концентрация политрипептида;
Tfa - трифторуксусная кислота;

K₁ - константа первого порядка скорости расщепления субстрата;
K_{II} - условная константа второго порядка скорости расщепления субстрата.

Пример 1.

Boc-Tyr(OBzI)-Glu(j BrI)OTcr (I)

К охлажденному до -10°C раствору 2,5 г t-Boc-Tyr(OBzI)-OH и 3,6 г DCC в 20 мл тетрагидрофурана при перемешивании добавляют 3 г HCl Glu(j BrI)-OTcr и 0,66 мл Et₃N. При этой температуре смесь перемешивают 2 ч, затем оставляют на 16 ч при комнатной температуре, выпавший осадок отфильтровывают, фильтрат упаривают в вакууме досуха. Остаток растворяют в EtOAc и промывают 5%-ным раствором лимонной кислоты, водой, 0,5%-ным раствором соды, водой. Сушат над Na₂SO₄. Фильтрат упаривают

в вакууме досуха. Получают 4,36 г сырого продукта (I) с выходом 95%, $[\alpha]_D^{20} + 6,94$ (C = 4 ЭА) R_fA = 0,96, R_fB = 0,76.

Пример 2.

Tfa.H-Tyr(OBzI)-Glu(j BrI)-OTcr (II)

К раствору 4,3 г продукта (I) в 15 мл CH₂Cl₂ добавляют 2 мл (1,5 экв) Tfa, энергично перемешивают в течение 40 мин при 20°C. Растворитель упаривают досуха под вакуумом. Избыток Tfa удаляют обработкой бензолом. Остаток обрабатывают абсолютным эфиром.

Получают 4,8 г сырого продукта (II) с выходом 80%, $[\alpha]_D^{20} + 8,67$ (C = 4, ЭА) R_fA = 0,64; R_fB = 0,9.

Пример 3.

t-Boc-Ala-Tyr(OBzI)-Glu(j BrI)-OTcr III)

Синтезируют аналогично продукту (I), исходя из 1 г t-Boc-Ala-OH, 1,8 г DCC, 4,1 г продукта (II), 0,673 мл Et₃N. Получают 4,07 г продукта (III) с выходом 90%. $[\alpha]_D^{20} - 11,1$ (C = 2,5 ЭА), R_fA = 0,95, R_fB = 0,67.

Пример 4.

Tfa.H-Ala-Tyr(OBzI)-Glu(j BrI)-OTcr IV)

Продукт (IV) получают аналогично продукту (II), исходя из 3,4 г продукта (III), растворенного в смеси (2:1) хлористого метилена и Tfa при перемешивании в течение 4 ч. После соответствующей обработки получают 2,4 г продукта (IV) с выходом 78%. R_fA = 0,56, R_fB = 0,51.

Пример 5.

poly H-Ala-Tyr(OBzI)-Glu(j BrI)_n-OH (V)

1,7 г продукта (IV) растворяют в 1,7 г DMF, добавляют 1 г экв Et₃N. Хорошо перемешивая, смесь оставляют при 20°C на 8 сут. Продукт выделяют обработкой смесью метанол-эфир (1:3). Выделенный продукт очищают диализом против смеси вода - диоксан (1:1) и лиофильно высушивают. Получают 0,89 г полимера (V) с мол.м. 8280.

Пример 6.

Boc-His(im BrI)-Ser-Glu(j BrI)-OTcr (VI)

Синтезируют аналогично продукту (I), исходя из 1,5 г t-Boc-His(im BrI)-Ser, 0,94 г DCC, 2,5 г

NCI GIu(jBzI)-OTcp и 0,64 мл Et₃N. Получают 2,58 г продукта (VI) с выходом 89,2%. $R_f A = 0,36$, $R_f B = 0,72$.

Пример 7.

NCI-His(imBzI)-Ser-Glu(γ BzI)-OTcp(VII)

К раствору 4 г продукта (VI) в 20 мл абсолютного EtOAc добавляют 3,33 мл 3 н. HCl/EtOAc. Через 1 ч продукт осаждают сухим эфиром. Осадок неоднократно промывают эфиром и высушивают под вакуумом. Получают 2,5 г продукта (VII) с выходом 64,1%, т.пл. = 150°C, $R_f A = 0,13$.

Пример 8.

poluH-His(imBzI)-Ser-Glu(γ BzI)-OH(VIII)

Синтезируют аналогично продукту (V), исходя из 2 г NCI-His(imBzI)-Ser-Glu(jBzI)-OTcp, 2 мл DMF, 0,36 мл Et₃N. Получают 1,7 г полимера.

Пример 9.

poluH-(Ala-Tyr-Glu)_n-OH (IX)

0,5 г продукта (V) растворяют в 12 мл смеси диоксан-метанол-концентрированная HCl (1:1:0,25) и гидрируют над Pd чернью в течение 2 сут при 20 ± 2°C. После выделения продукт (IX) диализуют против воды в течение 4 ч и лиофилизируют. Получают 0,28 г продукта. Этот продукт далее очищают гель-фильтрацией на колонке (60 × 2,0 см), заполненной сефадексом G = 25, элюант вода. Фракционирование проводят с помощью коллектора фракции LKB со скоростью 12 мл/ч. Для определения мол. веса, продукт пропускают через откалиброванную маркерными белками колонку (60 × 2,0 см) с сефадексом G-50, со скоростью элюции 12 мл/ч. Мол.м. равна 10000.

Пример 10. Соединение (X) получают аналогично продукту (IX), исходя из 0,6 г продукта Nш/б смеси метанол - DMF (1:10) в течение

3 сут. Выход диализованного продукта против воды в течение 4 ч составляет 0,25 г. Мол.м. определенная гель-фильтрацией на сефадексе G-50, равна 6500.

Пример 11. Кислотный гидролиз соединений (IX) и (X).

По 2 мг очищенных политрипептидов растворяют в разных ампулах со стократным избытком 6 н. HCl. Запаянные в токе азота ампулы выдерживают при 105°C в течение 18 ч. Затем ампулы вскрывают, содержимое сушат в вакуум-эксикаторе. Остатки растворяют в дистиллированной воде и хроматографируют на бумаге в присутствии соответствующих свидетелей. Получают следующие результаты: $R_f A$ la - 0,31, Tyr - 0,41, GIu - 0,27, R_f His - 0,08, Ser - 0,18, GIu - 0,26. В качестве свидетеля для сравнения величин R_f на полоске хроматографической бумаги рядом с гидролизатом наносят соответствующие стандартные аминокислоты, в результате получены следующие величины R_f : A₁la - 0,30, Tyr - 0,41, GIu - 0,26, His - 0,09, Ser - 0,18.

Пример 12. В кювету с объемом 0,6 мл вносят 0,36 мл 0,1 М фосфатного буфера, pH 8,0, 0,2 мл водного раствора политрипептида с концентрацией 0,1 М (на мономерную единицу) и по 0,04 мл раствора субстратов с концентрациями $5 \cdot 10^{-3}$, $1 \cdot 10^{-2}$, $2 \cdot 10^{-2}$, $4 \cdot 10^{-2}$, $6 \cdot 10^{-2}$, $8 \cdot 10^{-2}$, $10 \cdot 10^{-2}$ М. Кювету вносят в спектрофотометр и измеряют изменение оптической плотности раствора как функцию времени. При холостом опыте раствор политрипептида не вносят. Полученные значения констант приведены в табл. 1 (pH 8,0, t = 30°C).

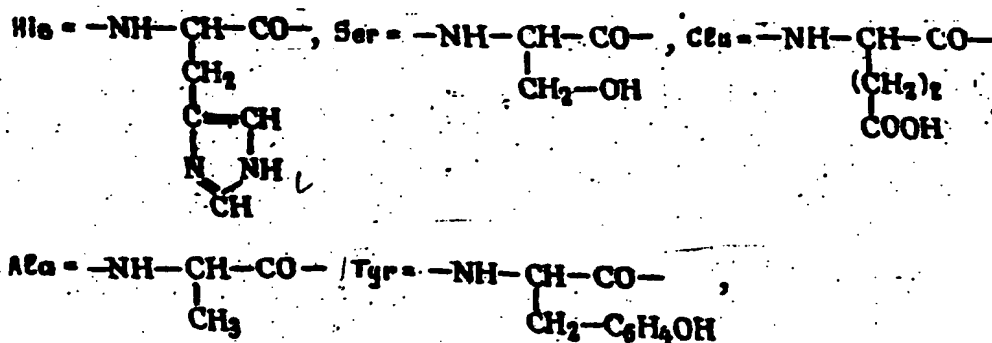
В табл. 2 приведена зависимость энантовой селективности от мол.м. политрипептидов.

Таким образом, изобретение позволяет повысить энантовую селективность политрипептидов.

Т а б л и ц а 1

Субстрат	H-(His-Ser-Glu) _n -OH			H-(Ala-Tyr-Glu) _n -OH		
	K ₁ , мин ⁻¹	K ₁₁ , моль/мин ⁻¹	KD/KL	K ₁ , мин ⁻¹	K ₁₁ , моль/мин ⁻¹	KD/KL
p-NFA	4·10 ⁻⁴	6,67·10 ⁻²		2,1·10 ⁻⁴	3,50·10 ⁻²	
Z-D-Ala-ONP	12,3·10 ⁻⁴	24,6·10 ⁻²	1,17	11,5·10 ⁻⁴	23·10 ⁻²	1,30
Z-L-Ala-ONP	10,5·10 ⁻⁴	2,1·10 ⁻²		8,8·10 ⁻⁴	17,7·10 ⁻²	

П р и м е ч а н и я: В случае p-NFA концентрация полипептида равна 5·10⁻³ М (на мономерную единицу), а в случае Z-L-Ala-ONP, Z-D-Ala-ONP - 6·10⁻³ М,



Т а б л и ц а 2

H(His-Ser-Glu) _n OH		H(Ala-Tyr-Glu) _n OH	
Мол.м.	KD/KL	Мол.м.	KD/KL
6000	1,12	6000	1,05
8000	1,17	7000	1,20
9000	1,17	8000	1,25
10000	1,17	10000	1,30

П р и м е ч а н и е: Для прототипа значения KD/KL = 0,99.

Редактор Н. Швыдкая Составитель Л. Валуев
 Техред Л. Микеш Корректор С. Черни

Заказ 6066/24

Тираж 474

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета СССР
 по делам изобретений и открытий

113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Филиал ППП "Патент", г. Ужгород, ул. Проектная, 4

BEST AVAILABLE COPY

POWERED BY Dialog

Enantiomeric-selective poly-tripeptide(s) - are used as catalysts in sepg. racemic aminoacid(s) into their optical antipodes

Patent Assignee: MOSCOW LOMONOSOV UNIV; TADZIK UNIV

Inventors: BERDYEVA M I; KHALIKOV S H; VALIEV R V

Patent Family

Patent Number	Kind	Date	Application Number	Kind	Date	Week	Type
SU 1182051	A	19850930				198615	B

Priority Applications (Number Kind Date): SU 3734282 A (19840428)

Patent Details

Patent	Kind	Language	Page	Main IPC	Filing Notes
SU 1182051	A		4		

Abstract:
SU 1182051 A

polytripeptides of formula H-(A-B-C)_n-OH where A is His or Ala, B is Ser or Tyr and C is Glu, of mol. wt. 6500-10000, showing enantioselectivity, are used in reactions of hydrolysis of p-nitrophenyl esters of carbobenzoxy D- or L-alanine. They act as a catalyst and show increased enantioselectivity.

Tests show that use of H-(His-Ser-Glu)_n-OH and H-(Ala-Tyr-Glu)_n-OH increases the enantioselectivity from 0.99 to 1.12-1.17 and 1.05-1.30 resp., the values rising with increasing mol.wt.

SE - Sepn. of racemic aminoacids into their optical antipodes. Bul.36/30.9.85 (4pp Dwg.No 0/0)

Derwent World Patents Index

© 2005 Derwent Information Ltd. All rights reserved.

Dialog® File Number 351 Accession Number 4596440

***** Dialog

Enantiomeric-selective poly-tripeptide(s) - are used as catalysts in sepg. racemic aminoacid(s) into their optical antipodes

Patent Assignee: MOSCOW LOMONOSOV UNIV; TADZIK UNIV

Inventors: BERDYEVA M I; KHALIKOV S H; VALIEV R V

Patent Family

Patent Number	Kind	Date	Application Number	Kind	Date	Week	Type
SU 1182051	A	19850930				198615	B

Priority Applications (Number Kind Date): SU 3734282 A (19840428)

Patent Details

Patent	Kind	Language	Page	Main IPC	Filing Notes
SU 1182051	A		4		

Abstract:

SU 1182051 A

Polytripeptides of formula $H-(A-B-C)_n-OH$ where A is His or Ala, B is Ser or Tyr and C is Glu, of mol. wt. 6500-10000 showing enantioselectivity, are used in reactions of hydrolysis of p-nitrophenyl esters of carbobenzoxy D- or L-alanine. They act as a catalyst and show increased enantioselectivity.

Tests show that use of $H-(His-Ser-Glu)_n-OH$ and $H-(Ala-Tyr-Glu)_n-OH$ increases the enantioselectivity from 0.99 to 1.12-1.17 and 1.05-1.30 resp., the values rising with increasing mol.wt.

USE - Sepn. of racemic aminoacids into their optical antipodes. Bul.36/30.9.85 (4pp Dwg.No 0/0)

Derwent World Patents Index

© 2005 Derwent Information Ltd. All rights reserved.

Dialog® File Number 351 Accession Number 4596440